

## ОСОБЕННОСТИ ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИЯ ИНДОТРИКАРБОЦИАНИНОВЫХ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ

И. В. Яковец<sup>1</sup>, И. Е. Кравченко<sup>1</sup>, М. П. Самцов<sup>2</sup>, В. П. Зорин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Белорусский государственный университет, Минск

<sup>2</sup> Институт прикладных физических проблем им. А. Н. Севченко БГУ,  
Минск

E-mail: viprorok@mail.ru

Полиметиновые красители являются перспективными фотосенсибилизаторами (ФС) для целей фотодинамической терапии. Данные соединения обладают интенсивной полосой поглощения в области 700-800 нм, т. е. в диапазоне максимальной оптической «прозрачности» биологических тканей, что позволяет значительно увеличить глубину эффективного фотовозбуждения молекул ФС. Использование полиметиновых красителей в фотодинамической терапии осложняется их слабой растворимостью в водных растворах. Для решения данной проблемы было предложено использовать в качестве ФС конъюгаты полиметиновых красителей с различными водорастворимыми соединениями (полимеры, углеводы и т.д.). Подобная химическая модификация красителей позволяет не только повысить водорастворимость, но и в ряде случаев увеличить селективность их накопления в опухолях. Изменения физико-химических свойств ФС при конъюгации должны оказывать значительное влияние на процессы их взаимодействия с различными биологическими структурами, процессами локализации в клеточных и тканевых структурах. Целью данной работы являлось изучение влияния конъюгации полиметиновых красителей с полиэтиленгликолем на процессы накопления и локализации их в клетках *in vitro*.

В работе исследовали индотрикарбоцианиновый краситель (ИТК), разработанный и синтезированный в лаборатории спектроскопии НИИПФП им. А.Н. Севченко, а также его химический модифицированный аналог (ИТКм). Химическая модификация ИТК производилась путем ковалентного связывания молекулы красителя с полиэтиленгликолем. Локализация и накопление ФС в клетках изучали методом лазерной сканирующей конфокальной микроскопии на флуоресцентном микроскопе Leica TCS SPE (Германия), а также с использованием проточной цитофлуориметрии на проточном цитометре FC 500 (США).

Поскольку спектрально-флуоресцентные характеристики исследуемых красителей отличаются незначительно, то анализ средней интенсивности флуоресценции клеток с использованием техники проточной цитометрии позволяет количественно сравнивать кинетики накопления

пигментов. Результаты исследований показали, что скорость и равновесный уровень накопления в клетках K562 исследуемых красителей существенно различаются. При физиологических условиях, скорость накопления химической модификации полиметинового красителя в клетках в несколько раз больше. Вследствие этого, равновесный уровень накопления ИТКм в клетках K562 в 5 раз больше.

Процесс накопления индотрикарбоцианиновых красителей является температурно-зависимым. Уменьшение температуры среды инкубации приводит к значительному торможению процессов накопления исследуемых красителей. При температуре 4 °С максимальный уровень накопления ФС в клетках наблюдается спустя 10 минут после начала инкубации и отличается более чем в 3 раза по сравнению с уровнем накопления при физиологических условиях.

Результаты флуоресцентной конфокальной микроскопии свидетельствуют о существенных различиях в характере внутриклеточной локализации исследуемых ФС. При инкубации клеток K562 в присутствии ИТК наблюдается слабая флуоресценция плазматической мембраны. Свечение цитоплазмы незначительно, в ней наблюдаются лишь отдельные сайты, флуоресцирующие в области испускания ФС. При окраске ИТКм наблюдается диффузная прокраска всех цитоплазматических структур клеток.

Идентификация преимущественных сайтов внутриклеточной локализации ФС возможно с использованием с использованием флуоресцентной колокализации. С этой целью использовались флуоресцентные зонды, обладающие избирательностью накопления в митохондриях (Mito Tracker Green FM) и эндоплазматическом ретикулуме (ER-tracker Green). Исследовалось перекрытие флуоресцентных изображений клеток, при их одновременной окраске ФС и колокализаторами. Математическая обработка полученных изображений проводилась в программе ImageJ. Полученные результаты свидетельствуют, что сайты с повышенной флуоресценцией ИТК в цитоплазме соответствуют митохондриальным структурам, тогда как эндоплазматический ретикулум практически не накапливает данный краситель. Использование техники колокализации для клеток, окрашенных ИТКм, подтверждает вывод об отсутствии преимущественной окраски каких-либо цитоплазматических структур.

Полученные данные показывают, что присутствие полиэтиленгликоля в молекулах полиметиновых красителей оказывает существенное влияние на процессы взаимодействия их с клетками: увеличивается скорость и уровень накопления ФС в клетках, значительно изменяется характер распределения пигмента между цитоплазматическими структурами клеток.